

土壌微生物に及ぼす除草剤の影響

島根大学農学部 山本 広基

は じ め に

近年の環境問題に対する関心の高まりの中で、農薬の使用による耕地環境の劣悪化や農業生産現場以外の環境への影響が懸念されるにいたっている。しかし、環境に及ぼす具体的内容を抜きにして漠然と口にされることが多い。土壌環境についても、「土が死んでいる」という表現がされたりするが、土壌微生物のほとんどが死滅してしまっているとの誤解もある。とくに、除草剤は他の農薬に比べると土壌に施用される場合が多いので、そういった問題の矢面に立たされることが多い。農薬は元来、農作物を害する生物を防除する目的で意図的に環境中に放出される生理活性をもつ物質であり、除草剤は作物以外の雑草をその標的としている。もちろん標的生物に対して選択性をもつようにデザインされているから、その物質に接触した生物が全て重大な影響を受けるわけではないが、環境中には多種多様の生物が複雑に相互作用を及ぼしながら生息しているので、標的としない生物への影響も皆無とはいえない。土壌微生物についても例外ではない。

ここでは、土壌微生物について概説したのち、除草剤と土壌微生物の関係について述べ、最後に土壌環境に対する影響評価について触れてみたい。

土壌微生物について

1. 土壌微生物とは

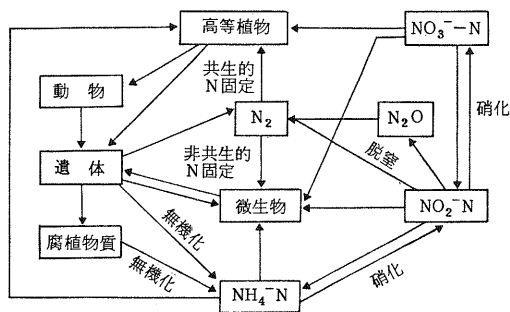
微生物という言葉は分類学的につけられた名称ではなく、肉眼では見えない生物を一括してそう呼んだのであり、そのため、分類学的にみると目にみえる生物とみえない生物とが同じグループに入ることがある。このことに注意して現在、土壌微生物という範疇に入れられているのは、菌類、藻類、原生動物および細菌の4グループである。このうち、菌類と藻類には、かなり大きな生活単位をもつものもある。菌類には各種のキノコが属しているし、藻類にはコンブのようなものが含まれる。したがって、微生物に属する菌類や藻類を、微小菌類、微小藻類と呼ぶこともある。土壌中には小動物のダニ、トビムシ、線虫あるいはミミズなども多数生息しているが、これらは土壌微生物と呼ばない。第1表に土壌微生物の大きさと数を示した。これらのうち、細菌と細菌の一種であるラン藻(Blue-Green Algae, Cyanobacterium)は原核であり、それ以外は真核である。表には

第1表 土壌微生物の種類

種 類	大 き さ (μm)	数 (/g 土 壌)
原 生 動 物	10-20 $\times$ 5-200	10^3 - 10^5
藻 類	1.5 $\times$ 2-50	10^3 - 10^5
糸 状 菌	3-10 $\times$ 3-100	10^3 - 10^5
細 菌	0.3-2 $\times$ 0.4-10	10^6 - 10^8

土壌 1 g 当たりの数を示したが、大きさの異なる微生物を細胞の数で比較してもあまり意味があるとはいえない。生物重量（バイオマス）として捉えるのが妥当かもしれない。普通の畑土壌中には、もちろん、わらなどの有機物の量によって異なるが、平均すると10アール当たり約700kgの土壌生物がいる。このうち、細菌が140～175 kg、糸状菌が490～525 kgであり、ミズなどの小動物は35 kg 以下である。糸状菌の菌糸の長さは65,000,000 kmに達する。

土壌微生物は土壌中における物質循環の担い手として重要な役割を果たしている。動植物の遺体や腐食物質などの土壌有機物や種々の化学物質などの分解を司るとともに、窒素固定や硝化作用あるいは脱窒作用などの農業上の重要な作用を営むグループもある。また、イオウ、鉄、マンガンなどの無機元素の酸化・還元反応にも関与している。第1図に土壌中における窒素の循環と主な微生物作用を示した。



第1図 窒素の循環と主な微生物活性

2. 土壌微生物研究の問題点

前述のように、土壌中には多種多様な微生物が複雑な相互作用を及ぼしながら生息しており、主に分解者として生態系の中で重要な位置を占めている。しかしながら、対象がきわめて多様であり、また微小であるためにその研究はいくつかの間接的な方法論に従わざるを得ない。ま

た、これらの方法論はいずれも生態学的に困難な問題を内包しており、農薬の土壌生態系に及ぼす影響については、近年になってその重要性が意識され、多くの研究が行われるようになってきたものの、統一的な見解を引き出すにはいたっていない。

土壌中の微生物の認識のしかたとして、土壌中の物質変化の担い手として捉える場合と、土壌生態系の中の構成員として捉える二通りがある。前者の側面は土壌の肥沃度とも関連するため、また物質変化の内容が比較的明解であるために古くから多くの研究がある。一方、土壌生態系の構成員としての側面は、微生物社会の構造そのものの意義付けが難しく、そのために非標的微生物として、どのような微生物をどのくらい対象とすればよいのかわからないのが現状であろう。

3. 部分殺菌効果

Russelら¹⁾は、土壌を加熱したり殺菌力のある薬剤で処理するなど不完全な殺菌処理をすると、土壌中の細菌数は処理直後に一時的な減少が認められるが、その後、処理前に比べると著しく増加し、また窒素の無機化量も増大することを明らかにした。この現象は、現在完全に説明できるまでにはいたっていないが、処理によって死滅しなかった細菌が死滅した他の微生物遺体を利用して増殖するためであろうと考えられており、部分殺菌効果 (Partial Sterilization) と呼ばれている (初期には細菌を捕食するアメーバが死ぬことによって細菌の増殖が可能になるとする考え方が有力であった)。農薬を処理することによっても一時的に呼吸量が増大したり、無機態窒素が増加することがよく認められている。

除草剤と土壤微生物

土壤微生物相に及ぼす農薬の影響についての研究は枚挙にいとまがないが、それらから得られた結果を統一して農薬の生態系影響を結論づける状態にはいたっていない。以下に、二、三の研究例を述べるが、これまでもいくつかの総説、解説^{2,3,4,5,6,7)}があるので参考にされた。

1. 微生物作用に及ぼす除草剤の影響

微生物活性を最も概括的に測定する方法として土壤呼吸が取り上げられることが多い。Wardle⁸⁾は2,4-D, picrolam, glyphosateを施用したときの呼吸量の変化から、これらの除草剤を常用量施用した場合、一時的な影響はあるもののその影響はすぐに消失し、また、連用しても影響がないと結論している。中野ら⁹⁾は約20種の農薬について湛水状態と畑地状態の両方で呼吸量を測定し、ほとんどの場合、部分殺菌効果によるものと考えられる呼吸量の増加を認めている。Naganawa *et al.*¹⁰⁾は農薬連用圃場において呼吸活性を測定し、手除草区以外の呼吸活性には有意差がなく、温度や植生の有無などの環境要因の影響がはるかに大きいことを報告している。

除草剤の土壤微生物に及ぼす影響を検討する際に重要なことは、土壤微生物が植生と密接に関わっていることである。植物根圏は土壤微生物にとってきわめて重要な意味をもっている。通常、根圏では、根からの分泌物が栄養となり、微生物が非根圏に比べ活発に活動しており、また数も多いことが知られている。したがって、除草剤の施用によって微生物活性が抑制されたり、また、そのバイオマスが減少したとしても、それが草種、草量の減少によって根圏効果が失われたためなのか、あるいは除草剤の微生物に

対する直接の影響なのかを見極める必要がある。対照区として手除草区を設ける必要がある場合もある。

窒素の循環(第1図)に関する微生物活性として、無機化、硝化、窒素固定が取り上げられることが多い。このうち特に硝化活性に及ぼす影響についての報告は多い¹¹⁾。硝化はアンモニア態窒素が硝酸態窒素に酸化される反応であるが、主として、亜硝酸菌(*Nitrosomonas* など)によるアンモニアの酸化と硝酸菌(*Nitrobacter* など)による亜硝酸の酸化の2段階の過程で行われる。これらの細菌は土壤中に広く分布しているが、化学合成独立栄養細菌であり、また種類が限られているため、土壤呼吸や窒素の無機化といった、多くの微生物が関与する反応に比べると薬剤の影響を受けやすい。薬剤の種類によって阻害される過程(亜硝酸化および硝酸化)が異なることも多く、硝化作用として硝酸生成を一括して捉えている物質の変化も微生物的な阻害の内容が異なることに注意が必要である。

窒素固定に関する報告^{12,13,14,15,16)}も多い。ただ、根粒菌などの共生的窒素固定の場合は宿主である植物の生育状況などによる影響と薬剤による影響を切り離して考察することは容易ではない。

有機物の分解活性に関して、セルロースの分解活性に及ぼす影響^{17,18)}、土壤酵素活性に及ぼす影響^{19,20)}なども調査されている。

2. 微生物フロラに及ぼす除草剤の影響

土壤微生物に及ぼす農薬の影響を扱った研究の多くは、土壤中の微生物数の増減を調査したものが多く、フロラにまで立ち入って検討された例^{21,22,23)}は少ない。生物の個体数を把握することは生態学の最も基本的な作業であるが、

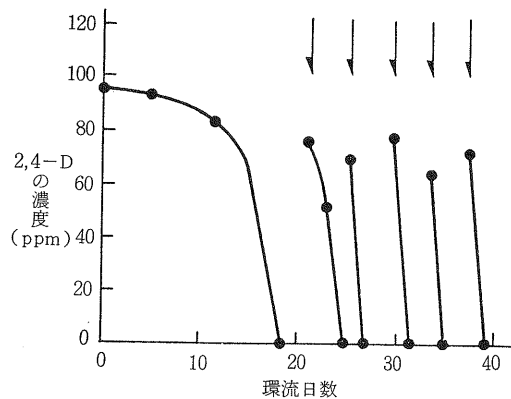
土壌微生物の数を測定することはきわめて多くの問題点を含んでいる。そのような問題を抱えながら、単に、微生物数を測定することにどれほどの意味があるのか疑問である。例えば、平板希釈法で計数される糸状菌数の大部分は土壌中で休眠状態にある孢子数を示すであろうし、また、細菌数にしても土壌の分散、コロニー形成速度、培地成分など問題は多い。一方、フロラを対象とする研究は種構成の変化にまで踏み込んでその生態学的な影響の中身をおさえようとするものであるが、このような研究には大変な時間とエネルギーを要する。Sato²⁴⁾は、PCP環流土壌中の窒素の無機化に関する研究の中で、細菌数の増加傾向、アンモニアの生成速度が対照区とほとんど同じであったにもかかわらず、細菌相が大きく異なっていたことを指摘している。異なった微生物相の意味についての判断はきわめて難しいが、微生物相に及ぼす薬剤の影響を捉えることの重要性を示している。

3. 除草剤の連用による分解速度の変化

土壌中における農薬の分解はそのほとんどが微生物によるものであり、薬剤が微生物相に影響を与えることによってその分解が促進されたり抑制されることがある。

同一のあるいは同系統の除草剤を連用するとその分解が著しく速くなる例は多い。全ての除草剤についてこのような現象がみられるわけではなく、分解速度の変化しない場合、逆に分解速度の遅くなる場合があろう。Molinate^{25, 26)}の分解は分解速度の変化しない例である。農薬の微生物分解の先駆的研究である Audus²⁷⁾の集積培養での研究によって土壌微生物による適応的分解の過程が明らかにされた。2,4-P A (2,4-D)を還流すると、土壌への吸着による減少が認められた後、一定のラグ期を経て

その後2,4-Dは速やかに減少した。一旦このような分解が認められた後、新に2,4-Dあるいは構造的に類似の化合物を反復して処理してもそれ以降はラグ期なしにその化合物の減少がみとめられた(第2図)。ラグ期の長さは化合物の構造や土壌の種類によって異なるが、同様の現象はPCP, isouron, benthocarb, dalapon (DPA), propanil (DCPA)について認められている²⁸⁾。



第2図 環流土壌による2,4-Dの分解

(矢印の時点で2,4-Dを新たに添加)

圃場においても同一あるいは構造が類似の土壌処理剤を連用していると効力が低下する例は多い。処理された除草剤は除草目的を果たした後、速やかに分解消失することが耕地環境の維持保全上好ましいが、あまり分解が速すぎると農業上大きな問題が生じる。このような「問題土壌 (Problem Soil)」はアメリカ合衆国中西部のトウモロコシ畑で広く使用されていたチオカーバメート系除草剤EPTCについて報告されて以来^{29, 30)}、多くの研究がなされてきている^{31, 32)}。これらの微生物学的な内容について、片山³³⁾は、1) 土壌微生物によるエネルギー源としての農薬の利用、2) エネルギー源とならない場合でも分解に関与する酵素群が誘導される、3) 殺菌性のある農薬による感受性微生物

の死滅，などをあげている。

土壤微生物に及ぼす農薬の影響評価

以上ここまで述べたように，除草剤の土壤微生物に及ぼす影響に関する研究例は少なくないが，それではこれらの研究で得られた知見から除草剤の土壤生態系影響についてリスクアセスメントが可能なのだろうか。残念ながら現時点ではそのような状況にない。というのは，先にも触れた土壤微生物を扱う方法論に由来することであるが，個々の研究者は個別の項目について個別の方法で試験しているために，その結果を総合することが困難であり，個々のデータは多いものの統一した知見が得られないからである。土壤環境は巨視的にも微視的にもきわめて不均一であり，そこに生息する微生物相にも大差がある。また，環境条件の少しの変化が微生物相を容易に変化させるので除草剤のインパクトだけを抽出することは非常に難しい。したがって，1) どのような微生物相あるいは微生物活性を対象に，2) どの程度の変化があれば，そして，3) その影響がどれだけの期間持続すれば，農業上あるいは環境問題として重大な影響ありとするのか，という点の合意を形成した上で，それぞれの研究者が一定の基準に則って試験計画をたてて実施すること，すなわち影響評価方法の確立とそれに則ったデータの集積が急がれる。さらに，これらのデータを基にして，土壤環境を永続的なものにするための合理的な対策が講じられる必要がある。

以上のような観点から，筆者らは文部省の科学研究費の補助を受けて「土壤生態系に及ぼす農薬の影響評価方法に関する研究」を組織し，数回のワークショップをもつことによって「農薬の土壤生態系影響評価のための推奨試験」を

提案した³⁴⁾。ヨーロッパにおいても同様の農薬の影響評価試験が提案されているが，水田土壤に関する試験が盛り込まれたのは初めての試みである。次にその推奨試験の概要について記す。

まず，影響評価にあたって何を対象とするかについての基本的考え方であるが，数回にわたる論議の末，以下のような結論に達した。

- 1) 全ての微生物，活性，微生物間の相互関係を対象とすることは不可能（現在我々が知っているのはごく一部にすぎないし，たとえこれだけでも全て試験するのは不可能に近い）である。
- 2) 土壤微生物に対する知識，経験の比較的浅い研究者でも精度の高い結果が得られるような対象項目，方法である必要がある。
- 3) 単に微生物数を計ることは意味がない。むしろバイオマスをみたほうがよい。
- 4) 生産現場である耕地の保全を考えるなら，肥沃度を中心とする生産性に密接に関連する微生物を重要とみなさざるを得ない。土壤中での微生物社会（種構成など）に対するインパクトも重要であろうが，現時点では取り扱い方（手法，評価を含めて）が困難である。
- 5) 欧米の類似の評価試験には水田土壤は取り上げられていないが，我が国の水田土壤微生物学研究はこれに貢献できるだけの蓄積があるので，今回，畑地，水田の両方について検討する。
- 6) VAM，根圏微生物，土壤酵素については今回は保留する。

以上の基本的考え方に基づいて選ばれた評価対象項目は次のとおりである。

- ・畑地 バイオマス，硝化，有機物の無機化（基質誘導呼吸，窒素の無機化など）

- ・水田 窒素の無機化, メタン・炭酸ガス発生,
田面水・土壌表層のクロロフィル量,
バイオマス, 非共生的窒素固定

ここに述べられた項目が土壌生態系にとって、あらゆる場面において同等の重要性を有し、全てにわたって試験される必要があるのかどうかについてはなお議論の余地が残されている。例えば、普遍的に最重要と考えられる項目のいくつかについて試験した後、農薬の影響が強く示唆される場合には次のステップの試験を実施する、というような段階的な試験実施方法をとることも一つの考え方であろう。いずれにしても、畑土壌、水田土壌の微生物活性のうちから重要と考えられる項目を挙げ、その統一試験方法を提案したが、次いで重要な課題となるのは、これらによって得られる試験成績をどのように解釈し評価するかということである。

残念ながら、我々は現在、この問題についての明確な解答を持ち合わせていない。というのは、今回提案した項目の試験結果がそれぞれの程度の変動を持つのかについての十分な情報が得られていないからである。もちろん、今回提案したそれぞれの微生物活性については、現在、土壌微生物学の分野でその試験方法が確立されているものばかりであるが、これらが種々の環境要因、あるいは土壌や培養条件によってどの程度変動するのかについての情報が極めて乏しい。このことは、農薬の影響の大きさを正に判断することを妨げる結果となる。農薬散布を農業という産業的な見地で正当化するならば、農薬の影響の大きさは自然環境ストレスとの比較の上で論じられる必要があろう。微生物生態学的見地からみると、土壌微生物はその環境から極めて過酷なストレスを受けている。例えば、土壌の乾燥、冠水などの水ストレス、温

度の変化、栄養の枯渇や過剰な供給などがあげられる。土壌中の微生物活動はこのようなストレスによって常に大きく変動しているが、自然環境下ではその変動の方向は定まっておらず、長期的にみればある一定の幅の範囲内で安定しているのが普通である。したがって、農薬の影響の大きさがこの範囲内におさまっており、それが不可逆的な変動でなければ、その影響は自然環境ストレスによる影響に吸収され得ると考えてよいのではないかと考えられる。ここで提案している微生物活性のそれぞれの変動の範囲についての知見が十分でないために評価できる状態にない、と前述したが、本推奨試験法に則ったデータの蓄積がそのためにともぜひとも必要である。

引用文献

- 1) Russel *et al.*, *Agric. Sci.*, **3**, 111 (1909).
- 2) Cullimore, D.R., *Residue Rev.*, **35**, 65-80, (1971).
- 3) J.F. Par, *In Pesticides in soil and water eds. W.D. Guenzi et al.*, 315-340, Soil Sci. Soc. America Inc. Publisher, Madison, Wisconsin, (1974).
- 4) 飯塚昭三, 土壌中における農薬の挙動, 農薬, 1, 082-1, 105, ソフトサイエンス社, 東京 (1979).
- 5) Greaves, M.P. and M.P. Malkomes, *In Interactions between Herbicides and the Soil ed. R.J. Hance*, 223-253, Academic Press, London (1980).
- 6) 佐藤 匡, 植物防疫, **44**, 501-505 (1990).
- 7) Pipe, A.E., *Rev. Environ. Contami. Toxicol.*, **127**, 95-170 (1992).
- 8) Wardle, D.A. and D. Perkinson, *Plant and Soil*, **122**, 21-28 (1990).
- 9) 中野るり子・飯塚昭三, 日本土壌肥料学会講演

- 要旨集, **23**, 44 (1977).
- 10) Naganawa, T. *et al.*, Soil Sci Plant Nutr., **35**, 509-516 (1989).
 - 11) 佐藤 匡, 土の微生物 土壤微生物研究会編, 396-402, 博友社, 東京 (1981).
 - 12) Wegener, K.E. *et al.*, Soil Biol. Biochem., **17**, 641-644 (1985).
 - 13) Ferrer, M.M. *et al.*, *ibid.*, **18**, 237-238 (1986).
 - 14) De Felipe, M.R. *et al.*, Plant and Soil, **101**, 99-105 (1987).
 - 15) Eberbach, D.L. and L.A. Douglas, *ibid.*, **119**, 15-23 (1989).
 - 16) Martinez-Toledo, M.V. *et al.*, Soil Biol. Biochem., **22**, 879-881 (1990).
 - 17) Katayama, A. and S. Kuwatsuka, Soil Sci. Plant Nutr., **37**, 1-6 (1991).
 - 18) 山本広基ら, 日本農薬学会第16回大会講演要旨集, 126 (1991).
 - 19) Nakamura, T. *et al.*, J. Pesticide Sci., **15**, 593-598 (1990).
 - 20) Baruah, M. and R.R. Mishra, Plant and Soil, **96**, 287-291 (1986).
 - 21) Ferriss, R.S. and D.J. Mitchell, Soil Biol. Biochem., **13**, 57-63 (1981).
 - 22) Torstesson, L. *et al.*, *ibid.*, **16**, 445-452 (1984).
 - 23) Wardle, D.A. and D. Perkinson, Plant and Soil, **122**, 29-37 (1990).
 - 24) Sato, K., J. Gen. Appl. Microbiol., **31**, 197-210, (1985).
 - 25) Imai, Y. and S. Kuwatsuka, J. Pesticide Sci., **11**, 57-63 (1986).
 - 26) Imai, Y. and S. Kuwatsuka, J. Pesticide Sci., **11**, 111-117 (1986).
 - 27) Audus, L.J., Nature, **166**, 365-367 (1950).
 - 28) 歟塚昭三, 第6回農薬環境科学研究会講演要旨集, 63-70 (1988).
 - 29) Obrigabich, T. *et al.*, Weed Sci., **30**, 175-181 (1982).
 - 30) Obrigabich, T. *et al.*, *ibid.*, **31**, 187-192 (1983).
 - 31) Roeth, F.W. *et al.*, Rev. Weed Sci., **2**, 45-65 (1986).
 - 32) 山田忠男, 植物防疫, **44**, 62-66 (1990).
 - 33) 片山新太, 植物防疫, **47**, 351-354 (1993).
 - 34) 山本広基ら, 土壌生態系に及ぼす農薬の影響評価方法に関する研究 平成4年度文部省科学研究補助金研究成果報告書, 62pp. (1993).

新刊

SHIBUYA INDEX

(英語版)

—Index of Pesticides— 1993年版

渋谷成美・ほか／編集 A 4判 850頁 定価30,000円 (税込)

1978年に第1版を発行して以来、簡便に使える農薬リストとして知られていた本書の第6版。世界の農薬すべてを網羅し、一般名、商品名、コードナンバー、メーカー名、構造式、適用場面、特性を記載。単剤3,300余種を構造別に整理し、関連化合物の検索も容易にできる。また、混合剤で4,100余種も掲載。

呈内容見本

全国農村教育協会

〒110 東京都台東区台東1-26-6(植調会館) 電話/03-3833-1821 FAX/03-3833-1665